

München 1960.

**Über den Einfluß der
Alloxanschädigung auf das
Kalikrein im Blut, im Harn
und im Pankreas**

Willi Dobovicnik
Verlag



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER II. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. Dr. G. Bodechtel

**Über den Einfluß der Alloxanschädigung
auf das Kallikrein im Blut, im Harn und im
Pankreas**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Willi Dobovicnik

aus Smartno-Slovenjgradec/Jugoslavien

München 1960

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. M. M. FORELL
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. E. WERLE
Dekan: Prof. Dr. H. SCHWIEGK

Tag der mündlichen Prüfung: 5.7.1960



INHALTSÜBERSICHT

	Seite
I. EINLEITUNG	5
II. EXPERIMENTELLER TEIL	6
1. Methodik	6
2. Einfluß der Alloxanschädigung auf das Blutkallikrein	8
3. Einfluß der Alloxanschädigung auf die Kallikreinbildung im Pankreas	14
4. Einfluß der Alloxanschädigung auf die Harnkallikreinausscheidung	18
5. Histologische Veränderungen nach Alloxanschädigung im Bereich des Pankreas- und des Nierenparenchyms	23
III. DISKUSSION DER EXPERIMENTELLEN ERGEBNISSE	26
IV. ZUSAMMENFASSUNG	28
V. LITERATURVERZEICHNIS	30

I. E I N L E I T U N G

Das von E. K. FREY und H. KRAUT (13) zuerst im Harn, später auch im Blut und in der Bauchspeicheldrüse aufgefundene Kallikrein, über das FREY, KRAUT und WERLE (14) in einer Monographie ausführlich berichteten, liegt in seiner inaktiven Form als Kallikreinogen im Pankreas und in der Globulin-Fraktion des Serums vor. Als aktives Kallikrein wird es im Harn und im Kot ausgeschieden. Aus der inaktiven Vorstufe kann das Kallikrein mittels Proteinase, wie Trypsin, freigelegt werden.

Das Pankreas stellt nach Untersuchungen von FREY und WERLE die Hauptbildungsstätte des Kallikreins dar; aber auch in den Mundspeicheldrüsen konnte das Kallikrein nachgewiesen werden. Die totale Pankreasexstirpation führt deshalb auch nicht zu einem völligen Verschwinden des Kallikreins aus dem Harn.

Die physiologische Bedeutung des Stoffes ist noch umstritten, bekannt ist seine blutdrucksenkende Eigenschaft und seine peripher-gefäßerweiternde Wirkung, welche therapeutisch bei Durchblutungsstörungen in der Peripherie mit Erfolg angewandt wird.

Sowohl im Tierexperiment als auch bei der klinischen Anwendung des Kallikreinpräparates "Padutin" zeigten sich gewisse funktionelle Beziehungen zwischen Kallikrein und dem Insulin; FREY, KRAUT und WERLE (15) beobachteten erstmals bei zwei Diabetikern, die zur Behebung von Durchblutungsstörungen mit Padutin behandelt wurden, daß parallel mit der Besserung der Durchblutung eine erhebliche Senkung des Blutzuckerspiegels eintrat. Über ähnliche Beobachtungen berichteten später auch andere Autoren, u. a. PETRIDES (26); dieser Autor berichtet über Erfahrungen, die an 14 mit Padutin behandelten Diabetes-Kranken gesammelt wurden.

Man versuchte daraufhin, namentlich in der Kriegs- und Nachkriegszeit als das Insulin knapp wurde, dieses bei leichten diabetischen Fällen durch Padutin zu ersetzen. Die blutzuckersenkende Wirkung des Kallikreins war, wie es sich bald zeigte, jedoch nicht konstant; besonders beim schweren Diabetes war das Kallikrein, auch in Verbindung mit dem Insulin wirkungslos, so daß die ursprüngliche Annahme der Möglichkeit eines wenigstens teilweisen Ersatzes des Insulins durch das Kallikrein wieder verlassen wurde.

Ein gewisser funktioneller Zusammenhang zwischen dem Insulin und dem Kallikrein war jedoch nicht abzuleugnen, obwohl manche Autoren (14) die Meinung vertraten, daß das Kallikrein keinen direkten insulinähnlichen, sondern einen indirekten Einfluß auf den Kohlenhydratstoffwechsel - im Sinne einer Erhöhung der Verbrennungsprozesse - ausübt. Die Annahme aber, daß das Kallikrein ein

Hormon des inkretorischen Teiles des Pankreas darstellt, wurde durch die soeben erwähnte funktionelle Ähnlichkeit beider Stoffe nur noch verstärkt.

Die Wirkung des Kallikreins auf den Kohlenhydratstoffwechsel, gleich wie diese zustande kommen mag, läßt an einen gewissen Synergismus zwischen Kallikrein und Insulin denken, wodurch die Frage aufgeworfen wird, ob nicht beide Stoffe eine gemeinsame Bildungsstätte aufweisen. Aus diesem Problem ergab sich die Fragestellung der vorliegenden Arbeit.

Die folgenden Untersuchungen hatten somit zum Ziel festzustellen:

1. Wie verhält sich das Kallikreinogen im Blut nach einer selektiven Schädigung der B-Zellen,
2. inwieweit wird nach einer solchen Schädigung des Inselapparates die Harnkallikreinausscheidung beeinflußt und
3. wie verhält sich das Kallikrein in der Bauchspeicheldrüse selbst nach Schädigung bzw. Zerstörung der Bildungsstätte des Insulins durch Alloxan.

An Hand der Ergebnisse dieser Untersuchungen sollte schließlich eine Aussage darüber gemacht werden, ob die B-Zellen als Bildungsort des Kallikreins in Frage kommen.

II. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Methodik

Es kamen insgesamt 96 männliche Albino-Ratten im Gewicht zwischen 180 und 250 g zur Anwendung, davon 24 Kontrolltiere. Die Nahrung der Tiere bestand aus Hafer und rohem Fleisch. Wasser erhielten die Tiere nach Belieben. Die Ratten fasteten 24 Stunden vor der verabreichten Alloxandosis. Während dieser Zeit wurden die Ausgangswerte des Blutzuckers (Bestimmungsmethode nach Hagedorn-Jensen, 22), der Diastase und Lipase bestimmt, sowie Blut für die Kallikreinbestimmung entnommen. Die Blutentnahmen erfolgten in der Regel aus der Schwanzvene und unter Äthernarkose.

An Hand einer Reihe von Versuchstieren, die in der oben angegebenen Gesamtzahl nicht berücksichtigt wurden, wurde zunächst die optimale Alloxan-Dosis festgelegt, bei der anzunehmen war, daß eine stärkere Schädigung anderer parenchymatöser Organe, vor allem der Leber nicht zu befürchten, bzw. auf ein Mindestmaß reduziert war, andererseits aber die Tiere doch diabetisch wurden. Es zeigte sich, daß eine einmalige Alloxan-Dosis von 50 mg pro kg Körpergewicht des Tieres, in die Schwanzvene injiziert, bei entsprechend empfindlichen Tieren

ausreicht, um eine histologisch manifeste B-Zellschädigung, bzw. Zerstörung und die typischen diabetischen Symptome hervorzurufen.

Die Ratten bekamen 50 mg Alloxan pro kg Körpergewicht als 1 %ige Lösung mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt, intravenös injiziert, die Kontrolltiere die entsprechende Menge NaCl-Lösung allein. Wegen der Unbeständigkeit des Alloxans in wässriger Lösung (9) wurde die Dosis erst unmittelbar vor der Injektion aufgelöst.

Das für die Kallikreinbestimmung entnommene Citratblut in der üblichen Verdünnung 1:5, wurde zentrifugiert und das Plasma abpipettiert. Bei 1 ml Citrat-Blut ergab sich eine Ausbeute von 0,5 bis 0,7 ml Plasma. Das Plasma kam bei einer Temperatur von + 4° C im Eisschrank zur Aufbewahrung, um nach Beendigung des Versuches möglichst alle anfallenden Plasmaansätze an einem Testhund nacheinander zu prüfen, da bekanntlich die Empfindlichkeit der Testhunde für Kallikrein von Fall zu Fall erheblichen Schwankungen unterliegt. Eine Reihe von Versuchen zeigte, daß derart konservierte Plasmen bis zu 4 Wochen in ihrer Wirkung im Bezug auf das Kallikrein unverändert bleiben, vorausgesetzt, daß die zur Aufbewahrung kommenden Gefäße steril und sauber waren und damit ein Ausfällen der Plasmen vermieden wurde. Die Kallikreinaktivierung im Plasma und im Pankreasdrüsenhomogenat, sowie die Prüfung der blutdrucksenkenden Wirkung am Testhund ist nach der von WERLE (31), FORELL und Mitarbeitern (10, 29) an anderer Stelle beschriebener Methodik durchgeführt worden.

Der Harn von Versuchstieren wurde nach der von FREY, KRAUT, WERLE und SCHULTZ (14) angegebenen Methode 24 Stunden gegen fließendes Wasser dialysiert und unverdünnt injiziert. Normalerweise liegt das Kallikrein im Harn in seiner aktiven Form vor; zur Aktivierung des eventuell inaktiv ausgeschiedenen Kallikreins wurde dem dialysierten Harn auch noch kristallines Trypsin zugesetzt und wie bei der Plasmaaktivierung verfahren.

Die Fermentbestimmungen im Blut und im Pankreashomogenat erfolgten für Diastase nach SOMOGYI (28), für die atoxylresistente Lipase nach SCOZ (27). Beide Methoden wurden nach einer von HENNING und HEINKEL angegebenen Modifikation durchgeführt. Die Einzelheiten der Ausführung sind an anderer Stelle eingehend beschrieben worden (23).

Zur Bestimmung des Eiweißgehaltes im Harn kam die übliche ESBACH'sche Methode zur Anwendung. Die quantitative Harnzuckerbestimmung erfolgte durch Polarisation. Die Harnsedimentbestimmungen beschränkten sich lediglich auf Alloxan-Ratten mit Albuminurie und Glucosurie.

Am Ende der Versuche wurde bei einer Reihe von Versuchstieren das Pankreas histologisch auf B-Zellschädigung untersucht. Das Pankreas wurde wie zur Her-

stellung des Homogenates in Toto herausgenommen und in Boin'scher Lösung fixiert. Zur Darstellung der Inselzellen bedienten wir uns der Färbmethode nach GOMORI (17, 18), in einer Modifikation nach MASKE (24), die den Vorteil einer genauen Differenzierung zwischen A- und B-Zellen bietet. Es sind sowohl aus dem Kopf- als auch aus dem Mittel- und Schwanzteil des Pankreas mehrere Schnitte angefertigt worden, um einen Querschnitt über das Ausmaß der B-Zellschädigung, sowie der Schädigung im Bereich des exokrinen Teiles zu gewinnen. Ebenso wurde histologisch das Ausmaß der Leber- und Nierenschädigung durch das Alloxan geprüft und die Befunde mit gesunden Organen der Kontrolltiere verglichen.

2. Einfluss der Alloxanschädigung auf das Blutkallikrein

Die Ausgangswerte des Kallikreinogens im Blut betrugen im Durchschnitt 0,95 KE/ml Citratplasma. Dieser Wert wurde an Hand von Tagesschwankungen des Kallikreingehaltes bei über 100 unvorbehandelten Ratten errechnet. Die mittlere Abweichung von diesem Durchschnittswert betrug $\pm 0,30$ KE/1 ml.

Abbildung 1 zeigt die blutdrucksenkende Wirkung verschiedener mit Trypsin versetzter Plasmaansätze einer Kontrollratte, der 1,85 ml physiologischer Kochsalzlösung intravenös injiziert wurde. Berücksichtigt man Einflüsse unphysiologischer Art, die bei der Blutentnahme unvermeidbar waren und zu Veränderungen des Kallikreingehaltes führen könnten (Äthernarkose zur Entnahme des Blutes aus der Schwanzvene und Injektion von NaCl-Lösung), so ist die Schwankungsbreite des Blutkallikreinogens im Verlauf einer Beobachtungszeit von 4 Wochen doch relativ gering; der niedrigste Wert bei der in Abbildung 1 angegebenen Ratte mit 0,91 KE/ml Citratplasma und der höchste Wert mit 1,10 KE lagen somit noch in normalem Schwankungsbereich.

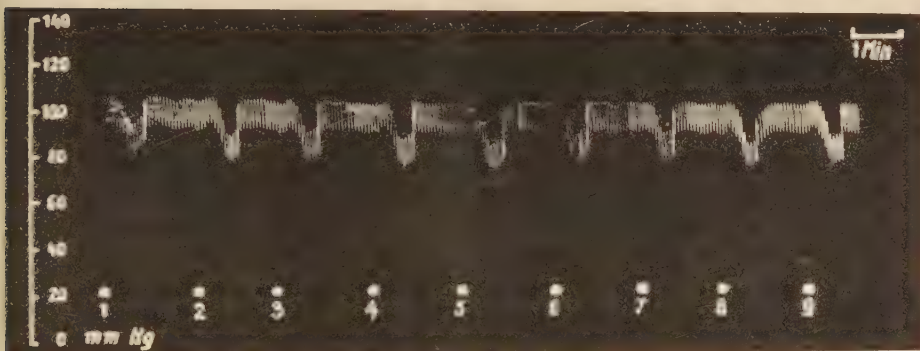
Die Abbildung 2 zeigt Blutkallikreinogenwerte von 43 alloxangeschädigten Ratten, teils mit voller Ausprägung der bekannten diabetischen Symptome, teils mit normalen Blutzuckerwerten; bei beiden Gruppen lag jedoch eine histologisch manifeste B-Zellschädigung vor.

In der Abbildung 3 ist die blutdrucksenkende Wirkung einzelner Plasmaansätze eines Versuchstieres vor und nach der Alloxangabe, wie sie am Carotisblutdruck eines Testhundes zur Darstellung kam, wiedergegeben. Das Ausmaß der Blutdrucksenkung gibt den jeweiligen Kallikreingehalt an. Die Blutzuckerwerte der angeführten Ratte lagen für die Dauer des Versuches von 28 Tagen in pathologischem Bereich zwischen 226 und 491 mg%.

Abbildung 1

Freilegung des Kallikreins in Blutproben einer Kontroll-Ratte über einen Zeitraum von 28 Tagen.

Ratte Nr. 447, Testhund männlich, 18 kg; Carotisblutdruck.



- | | | | |
|----|-----|---------------|---|
| 1. | 0,5 | K.E. Standard | (0,5 ml Harnkallikrein), |
| 2. | 0,5 | ml Ansatz | (Blut vor der Injektion), |
| 3. | 0,5 | ml Ansatz | (Blut 48 Stunden nach der Injektion
von 1,85 ml NaCl-Lösung i.v.), |
| 4. | 0,5 | ml Ansatz | (Blut 4 Tage nach der Injektion), |
| 5. | 0,5 | ml Ansatz | (Blut 7 Tage nach der Injektion), |
| 6. | 0,5 | ml Ansatz | (Blut 14 Tage nach der Injektion), |
| 7. | 0,5 | ml Ansatz | (Blut 21 Tage nach der Injektion), |
| 8. | 0,5 | ml Ansatz | (Blut 28 Tage nach der Injektion), |
| 9. | 0,5 | K.E. Standard | |

Ansätze: 0,5 ml Citratplasma + 0,5 ml physiolog. NaCl-Lösung +
500 γ -Trypsin (0,05 ml), 10 Minuten.

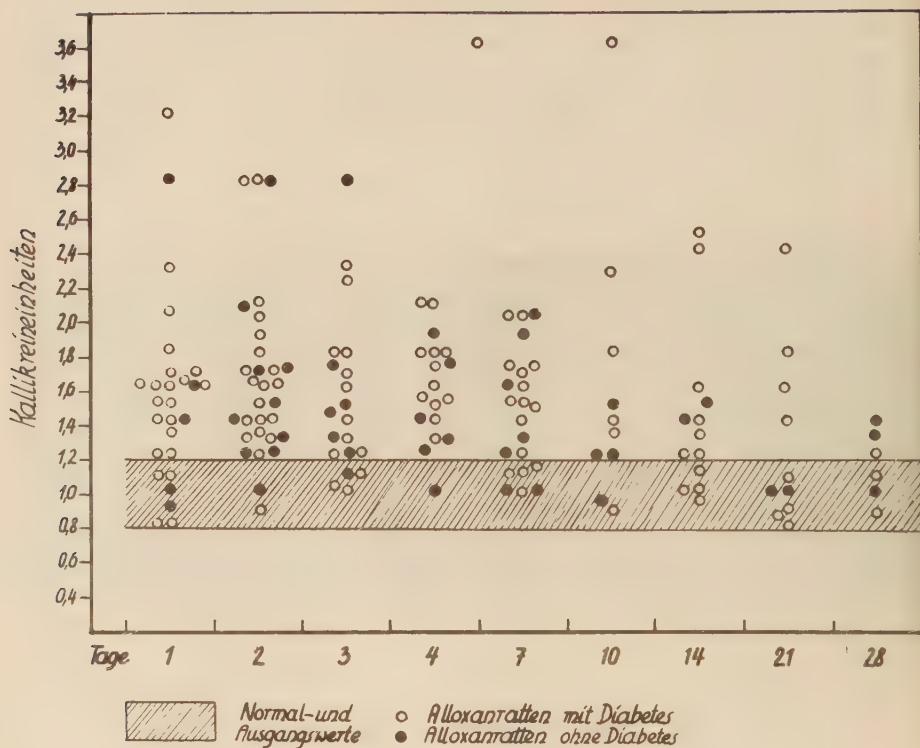


Abbildung 2: Kallikreingehalt im Blut von alloxangeschädigten Ratten über einen Zeitraum von 28 Tagen.

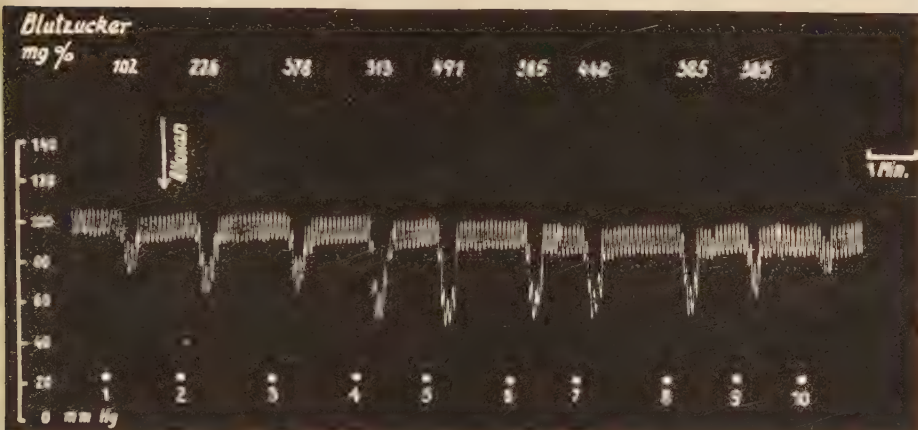
Auch die übrigen diabetischen Symptome, wie Polydipsie, Polyurie und Glucosurie waren stark ausgeprägt. Die histologische Untersuchung des Inselorganes solcher Ratten, auf die später näher eingegangen werden soll, ergab eine schwere Schädigung oder stellenweise ein völliges Fehlen der B-Zellen.

Zu einem Anstieg des Kallikreins im Blut kam es, ähnlich wie bei diabetischen Ratten, auch bei denjenigen Ratten, die nach Alloxan zwar eine B-Zellschädigung aufwiesen, die übrigen diabetischen Symptome aber vermissen ließen. Die Kallikreinmittelmerte im Blut lagen im Vergleich zu diabetischen Tieren zwar etwas niedriger, sie waren jedoch im Vergleich zu den Werten der Kontrolltiere deutlich erhöht (Abbildung 2). Die Blutzuckerwerte solcher Ratten lagen für die Dauer des Versuches im Normbereich. Histologisch fand sich auch bei diesen Tieren eine B-Zellschädigung in Form von Kernpyknose, Vakuolisierung und grober

Abbildung 3

Freilegung des Kallikreins in Blutproben einer Alloxan-Ratte über einen Zeitraum von 28 Tagen.

Ratte Nr. 452, Testhund männlich, 21 kg; Carotisblutdruck.



- | | | | | |
|-----|------|------|----------|------------------------------------|
| 1. | 0,5 | ml | Ansatz | (Blut vor der Alloxan-Injektion). |
| 2. | 0,5 | ml | Ansatz | (Blut 24 Std. nach der Injektion). |
| 3. | 0,5 | ml | Ansatz | (Blut 48 Std. nach der Injektion). |
| 4. | 0,5 | ml | Ansatz | (Blut 72 Std. nach der Injektion). |
| 5. | 0,5 | ml | Ansatz | (Blut 4 Tage nach der Injektion). |
| 6. | 0,5 | ml | Ansatz | (Blut 7 Tage nach der Injektion). |
| 7. | 0,5 | ml | Ansatz | (Blut 14 Tage nach der Injektion). |
| 8. | 0,5 | ml | Ansatz | (Blut 21 Tage nach der Injektion). |
| 9. | 0,5 | ml | Ansatz | (Blut 28 Tage nach der Injektion). |
| 10. | 0,25 | K.E. | Standard | (0,25 ml Harnkallikrein). |

Ansätze: 0,5 ml Citratplasma + 0,5 ml physiolog. NaCl-Lösung + 500 γ -Trypsin (0,05 ml), 10 Minuten.

Protoplasmagranulation, es konnten jedoch - im Gegensatz zu diabetischen Ratten auch intakte B-Zellen mit einwandfreier Strukturbeschaffenheit nachgewiesen werden. Diese genügten offenbar für die Aufrechterhaltung einer ausreichenden Insulinproduktion.

Es kam somit nach Alloxan zu einem Anstieg des Kallikreins im Blut sowohl bei diabetischen - als auch bei nichtdiabetischen Ratten, woraus zu entnehmen war, daß das Verhalten des Blutkallikreins von der Höhe des Blutzuckers unabhängig ist.

Bei der Suche nach der Ursache dieses Anstieges des Blutkallikreins wurde u. a. an die Möglichkeit einer eventuellen Verminderung des Trypsinhemmkörpers (4, 5, 10) nach Alloxan gedacht und dieser weitgehend Rechnung getragen. Die Plasmaansätze alloxandiabetischer Tiere wurden sowohl mit 0,5 mg als auch mit 1 mg und 2 mg kristallinem Trypsin pro 1 ml Citratplasma versetzt. Es zeigte sich, daß das Optimum der Kallikreinogenaktivierung bei 1mg Trypsin lag; die freigewordenen Kallikreinmengen fielen bei Aktivierung mit 0,5 mg und 2 mg niedriger aus als bei 1 mg. Im ersten Fall genügte die hinzugesetzte Trypsinmenge nicht zur vollständigen Aktivierung des vorhandenen Kallikreinogens, im 2. Fall erfolgte anscheinend eine Zerstörung eines Teiles des Kallikreins durch das überschüssige Trypsin. Eine Verminderung des Trypsinhemmkörpers kommt somit als Ursache des Kallikreinanstieges im Blut nach Alloxan nicht in Frage.

Wie aus den vorangegangenen Darstellungen zu ersehen, verhielt sich das Blutkallikrein bei diabetischen Tieren in den ersten Tagen nach der Alloxangabe ähnlich wie der Blutzucker; erst nach Ablauf von etwa 7 bis 14 Tagen fiel ein entgegengesetztes Verhalten des Blutzuckers und des Kallikreins auf, indem sich die Kallikreinwerte langsam normalisierten, während der Blutzucker im pathologischen Bereich verblieb. Auffallend war hingegen das gleichsinnige Verhalten der zwei wichtigsten, exkretorisch gebildeten Pankreasfermente im Blut, der Diastase und der atoxylresistenten Lipase, zu dem Blutkallikrein.

Wie aus der Abbildung 4 zu ersehen, steigen die genannten Fermente bereits in den ersten Tagen nach der Alloxan-Injektion an, wobei sowohl die Diastase als auch die Lipase pathologische Werte erreichten. So betrugen die Diastasewerte im Blut 24 Stunden nach Alloxangabe durchschnittlich 2 433 mg % (normal 800 bis 1 200 mg %) und kehrten am 3. Tag wieder zum Ausgangswert zurück. Der Anstieg der atoxylresistenten Lipase blieb hingegen bis zu 7 Tagen erhalten, danach normalisierte sich aber auch diese vollständig. Eine Verminderung der genannten Fermente nach Alloxan wurde im Blut in keinem Fall beobachtet.

Die angegebenen Mittelwerte der Diastase und der Lipase schließen die Werte von nichtdiabetischen Alloxanratten mit ein, da sich die genannten exkretorischen Fermente des Pankreas bei diesen Tieren ähnlich verhielten, wie bei diabetischen Ratten.

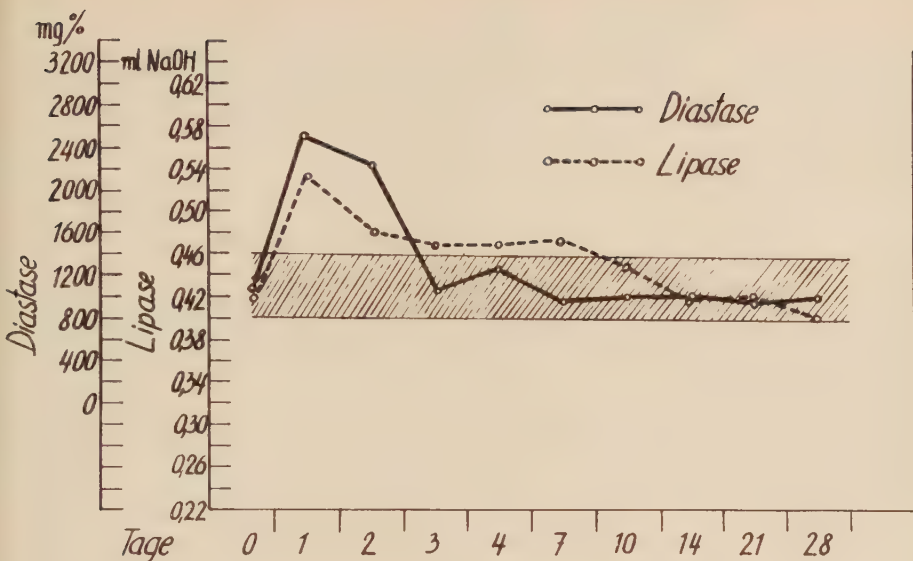


Abbildung 4: Das Verhalten der Diastase und der Lipase im Blut bei Ratten nach Injektion von 50 mg Alloxan/kg Körpergewicht. Das schraffierte Feld gibt die Schwankungsbreite der Normalwerte an.

Die Kallikreinwerte im Blut lagen nach Beendigung des Versuches stets in normalem Schwankungsbereich und unterschritten den Ausgangswert vor der Alloxangabe nicht (Abbildung 2). Eine Ausnahme hiervon bildeten lediglich die extrem abgemagerten und somnolenten Tiere, bei denen zur Blutentnahme eine Herzpunktion erforderlich war. Hierbei wurde gelegentlich eine Abnahme des Kallikreins im Blut festgestellt, so daß auf die Verwertung der Ergebnisse dieser Tiere verzichtet werden mußte. Die Ursache der Verminderung ist noch ungeklärt.

Abschließend kann somit gesagt werden, daß die intravenöse Verabreichung von Alloxan bei der Ratte in den meisten Fällen zu einer vorübergehenden, absoluten Vermehrung des Blutkallikreins führt, wobei es aber gleichgültig ist, ob es hierbei zu einer Ausprägung der diabetischen Symptome gekommen ist oder nicht. Außerdem fällt auf, daß sich die exkretorisch gebildeten Pankreasenzyme, Diastase und Pankreaslipase im Blut ähnlich verhalten, wie das Blutkallikreinogen.

3. Einfluß der Alloxanschädigung auf die Kallikreinbildung im Pankreas

Das Kallikrein im Pankreasdrüsenhomogenat liegt unter normalen Bedingungen bei der Ratte in seiner inaktiven Form als Kallikreinogen vor (31). Die intravenöse Injektion eines Pankreashomogenates in Verdünnung 1 : 20 ruft somit in üblicher Dosierung beim Testhund keine, oder nur eine geringe Blutdrucksenkung hervor. Nach vorausgegangenem Zusatz von Trypsin kommt die volle Kallikreinwirkung zur Geltung (31). Eine blutdrucksenkende Wirkung der Homogenate ohne Trypsinzusatz kann auch nach längerem Stehen, infolge autolytischer Zersetzungsprozesse zustande kommen. Bei vorliegenden Versuchen wurden folglich ausschließlich frische, sofort nach Sektion der Tiere hergestellte und nur wenige Stunden nach Tötung der Tiere zur Anwendung kommende Drüsenhomogenate verwendet.

Die Abbildung 5 zeigt an Hand der Carotisblutdruckwerte eines Testhundes die blutdrucksenkende Wirkung einzelner Homogenatansätze. Wie zu ersehen, ist der Gehalt an spontanaktivem Kallikrein des Pankreashomogenates der Kontrollratte gering im Vergleich zu dem Homogenat der Alloxanratte. Nach Zusatz von Trypsin wird das inaktive Kallikrein bei der Kontrollratte in die aktive Form übergeführt (Ansatz 3, Abb. 5). Der Vergleich mit Standardkallikreinlösung gibt den Kallikreingehalt der Homogenate an.

Die Pankreashomogenate von alloxangeschädigten Tieren zeigten in der Regel zweierlei Veränderungen gegenüber normalen Homogenaten der Kontrolltiere:

1. Sämtliche Homogenate waren spontanaktiv,
2. Der Kallikreingehalt von Alloxanratten war im Vergleich zu Kontrollratten erhöht.

Das Ausmaß der Kallikreinvermehrung im Homogenat war zum Teil durch die Höhe des Blutzuckers, das heißt durch die mehr oder minder ausgeprägte diabetischen Symptome und durch die Versuchsdauer, bzw. durch die Länge der Zeitspanne zwischen der Alloxaninjektion und Tötung des Tieres bestimmt.

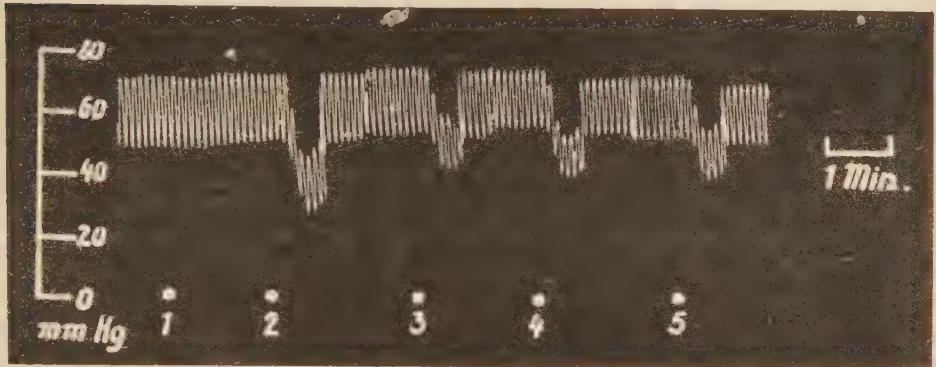
Wie aus der Abbildung 6 zu ersehen, liegen die ermittelten Werte für spontanaktives Kallikrein im Pankreashomogenat bei Alloxanratten am höchsten; sie betrugen im Durchschnitt 2,38 KE pro 50 mg Frischdrüse. Im Vergleich zu spontanaktivem Kallikrein der Kontrolltiere mit einem Wert von höchstens 0,21 KE pro ml Homogenat oder 50 mg Frischdrüse, lagen somit die Kallikreinwerte bei Alloxan-Ratten durchschnittlich etwa 10fach höher.

Abbildung 5

Kallikreingehalt im Pankreas einer Kontrollratte und einer Alloxanratte 8 Wochen nach Injektion von 50 mg Alloxan/kg Körpergewicht intravenös.

Kontrollratte Nr. 237 ; Alloxanratte Nr. 238.

Testhund männlich, 19 kg; Carotisblutdruck.



1. 0,3 ml Pankreashomogenat der Kontrollratte, ohne Trypsinzusatz,
2. 0,3 ml Pankreashomogenat der Alloxanratte, ohne Trypsinzusatz,
3. 0,3 ml Pankreashomogenat der Kontrollratte + 1 mg Trypsin/ml Homogenat,
4. 0,3 ml Pankreashomogenat der Alloxanratte + 1 mg Trypsin pro 1 ml Homogenat.
5. 0,5 KE Standard (Harnkallikrein, = 0,5 ml).

Ansätze: 3 und 4, 1 ml Pankreashomogenat (1 : 20) + 1 mg Trypsin;
15 Minuten.

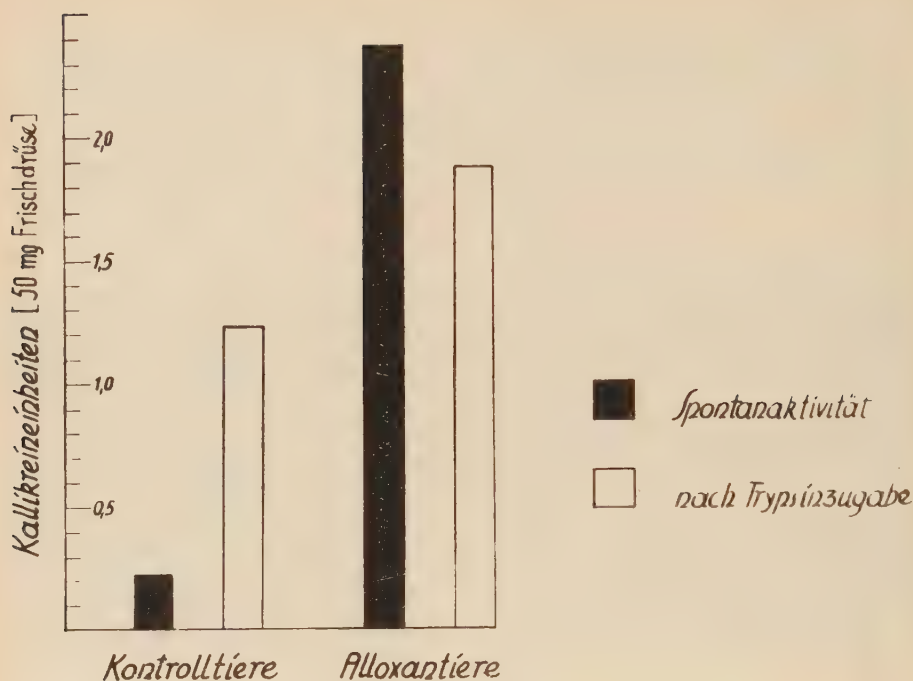


Abbildung 6: Kallikreingehalt im Pankreashomogenat von Kontroll- und Alloxanratten. Die einzelnen Säulen geben die Durchschnittswerte von je 10 Ratten an.

Das in aktiver Form vorliegende Kallikrein bei Alloxan-Ratten ohne manifesten Diabetes aber vorhandener B-Zellschädigung, lag zwar im Vergleich zu diabetischen Tieren etwas niedriger, im Vergleich zu den Kontrolltieren jedoch außerhalb der Höchstgrenzen der normalen Schwankungsbreite.

Wurden die Tiere nach Ablauf von 24 Stunden bis 4 Tagen nach Alloxangabe getötet, so lagen die Werte für spontanaktives Kallikrein etwas niedriger als bei langfristigen Versuchstieren, wobei die Unterschiede zwischen diabetischen und nichtdiabetischen Alloxanratten minimal waren. Die höchsten Werte wurden hingegen bei Tieren mit einer Versuchsdauer von über 7 Tagen nach Alloxangabe ermittelt.

Die Kallikreinwerte im Drüsenhomogenat nach Zusatz von Trypsin verhielten sich bei allen drei Gruppen, unabhängig von der Blutzuckerhöhe und Versuchsdauer, annähernd gleich. Eine geringe, jedoch immerhin über die normale Schwankungsbreite

hinausgehende Zunahme der Kallikreinwerte war bei Alloxanratten mit und ohne Diabetes im Vergleich zu den Kontrolltieren zu verzeichnen.

Die mitbestimmte atoxylresistente Lipase im Pankreasdrüsenhomogenat verhielt sich bei Alloxan-Ratten ähnlich, wie das Kallikrein. Insbesondere fiel auf, daß die Werte für die Pankreaslipase dem spontanaktiven Kallikrein entsprechend, am höchsten bei Tieren mit einer Versuchsdauer zwischen 7 und 28 Tagen lagen. Bei kurzfristigen waren die Lipasewerte, wie auch das Kallikrein niedriger. Auch hierbei ergab sich kein wesentlicher Unterschied zwischen diabetischen und nichtdiabetischen Alloxanratten.

Die Diastase im Pankreashomogenat von Alloxanratten zeigte 24 Stunden nach der Alloxangabe im Vergleich zu den Kontrolltieren nur eine minimale Änderung ihres Verhaltens; 48 Stunden nach der Injektion stieg sie geringgradig, jedoch nicht wesentlich über die normale Schwankungsbreite hinaus an, um etwa vom 4. Tag an kontinuierlich abzufallen. So betrugen die am 7. und 14. Tag errechneten Durchschnittswerte 12 660 mg, bzw. 11 833 mg neugebildeten Zuckers/mg Frischdrüse, am 28. Tag und darüber, 4 524 mg. Bei einer Ratte, die sehr ausge-

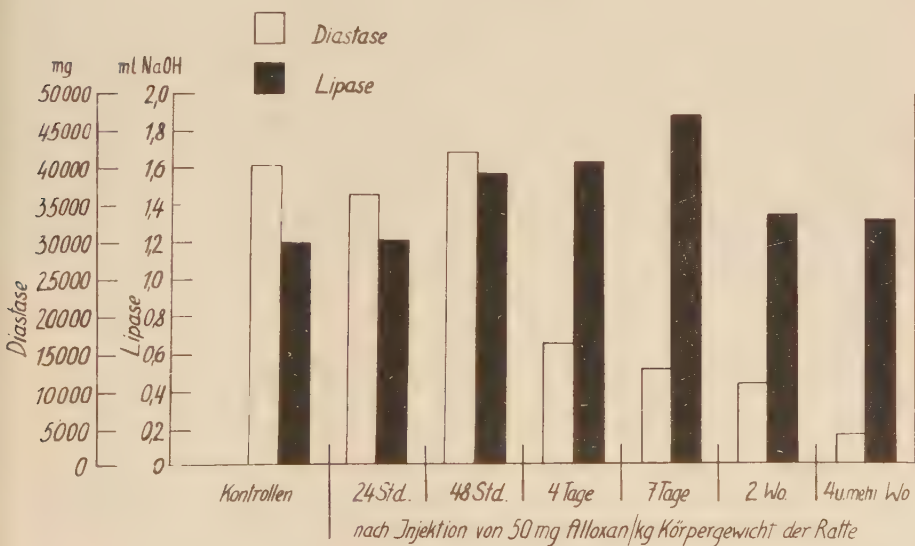


Abbildung 7: Diastase- und Lipasegehalt im Pankreas von Alloxan-Ratten. Die einzelnen Säulen geben die Durchschnittswerte von je 10 Ratten an.

prägte diabetische Symptome zeigte, fand sich am 28. Tag ein extrem verminderter Wert von nur 0,46 mg.

Der Abfall der Diastasewerte im Pankreashomogenat fiel zeitlich mit der Normalisierung der Blutdiastasewerte zusammen. Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen dieser raschen Normalisierung der Diastase im Blut und dem Abfall der Fermentwerte im Homogenat läßt sich folglich wahrscheinlich machen.

Die im Pankreashomogenat festgestellte kontinuierliche Verminderung der Diastase deutet auf eine fortschreitende Schädigung des Drüsenparenchyms hin, welche zu einer zunehmenden Beeinträchtigung der Diastasebildung führte.

Der Befund entspricht den Beobachtungen anderer Autoren (3, 6), wonach die Diastase als eines der empfindlichsten exkretorischen Fermente des Pankreas (11) durch die Schädigungen des Parenchyms zuerst betroffen wird. Gegen Schädigungen aller Art weitgehend unempfindlicher scheint hingegen, nach vorliegenden Befunden, die Pankreaslipase zu sein.

4. Einfluß der Alloxanschädigung auf die Harnkallikrein-Ausscheidung

Wenn die Alloxandosis ausreichend war um eine pathologische Blutzuckererhöhung von über 200 mg%, neben anderen diabetischen Symptomen, wie Polydipsie, Polyurie und Glucosurie hervorzurufen, so fielen die Harnkallikreinwerte in der Regel bereits 24 Stunden nach der verabreichten Alloxan-Injektion auf ein Minimum zurück. Der Kallikreingehalt dieser Harnproben blieb bei entsprechend ausgeprägten diabetischen Symptomen und histologisch manifester B-Zellschädigung, sowie Nierenschädigung - auf die später näher eingegangen werden soll - sowohl im Vergleich zu dem Ausgangswert als auch zu den Durchschnittswerten der Kontrolltiere für die Dauer des Versuches vermindert.

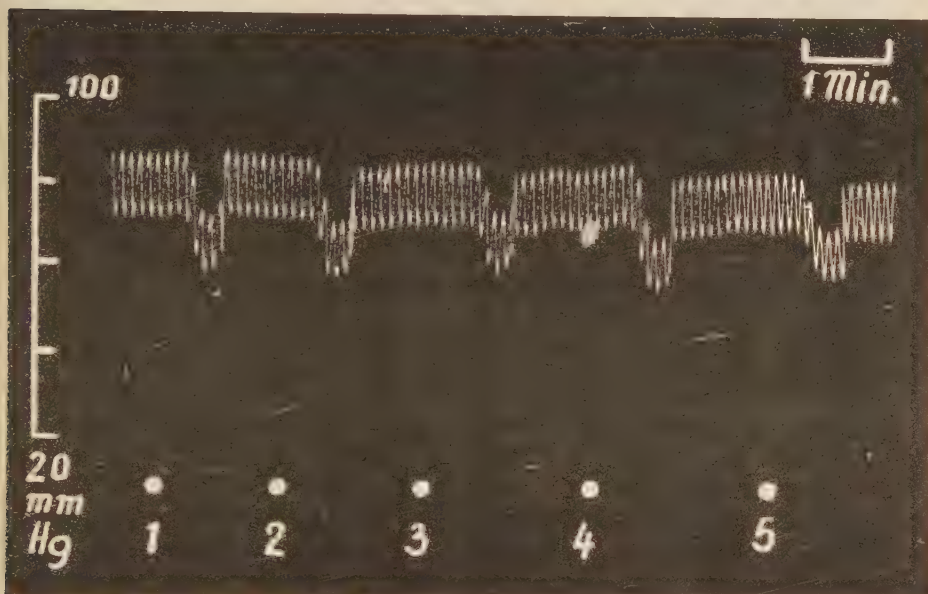
Die Abbildung 8 gibt zunächst die Carotisblutdruckwerte eines Testhundes nach Injektion einzelner Harnproben einer Kontrollratte, deren Tagesharn über einen Zeitraum von 8 Wochen gesammelt wurde, wieder.

Das Kallikrein im Harn eines Normaltieres liegt in seiner aktiven Form vor; die einzelnen Ansätze wirken ohne vorheriger Aktivierung mit Trypsin blutdrucksenkend (14).

Die Kallikreinwerte bei Kontrollratten bewegten sich zwischen 0,60 KE und 1,0 KE pro 1 ml Harn. Die Konzentration des Kallikreins im Harn unterliegt somit bei gleichem Versuchstier an verschiedenen Tagen erheblichen Schwankungen. Etwa gleichbleibend ist hingegen die in 24 Stunden ausgeschiedene Menge an Kallikrein obwohl das tägliche Harnvolumen stark variiert. Ein Ausgleich kommt dadurch zustande, daß die Kallikreinkonzentration sich im allgemeinen den Schwankungen des Harnvolumens entgegengesetzt verhält.

Abbildung 8

Kallikreingehalt im Harn einer Kontrollratte über einen Zeitraum von 8 Wochen.
 Ratte Nr. 237; Testhund männlich, 14 kg; Carotisblutdruck.



1. 0,44 ml dialysierter Harn, vor der NaCl-Injektion; Gesamtmenge 22,0 ml.
2. 0,38 ml dialysierter Harn, 4 Tage nach der Injektion, Gesamtmenge 19,0 ml,
3. 0,46 ml dialysierter Harn, 4 Wochen nach der Injektion,
 Gesamtmenge 23,0 ml,
4. 0,36 ml dialysierter Harn, 8 Wochen nach der Injektion,
 Gesamtmenge 18,0 ml,
5. 0,5 KE Standard (0,5 ml Harnkallikrein).

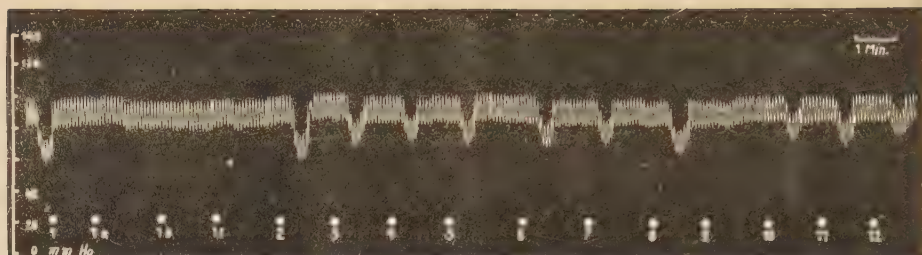


Abbildung 9: Kallikreingehalt im Harn einer Alloxanratte über einen Zeitraum von 8 Tagen. Ratte Nr. 283, Testhund männlich, 18 kg; Carotisblutdruck.

1. 0,80 ml dialysierter Harn vor Alloxan-Injektion,
- 1 a 0,72 ml dialysierter Harn 24 Stunden nach Alloxan,
- 1 b 1,16 ml dialysierter Harn 48 Stunden nach Alloxan,
- 1 c 2,52 ml dialysierter Harn 8 Tage nach Alloxan,
2. 0,80 ml (Ansatz 1 + 1 mg Trypsin),
3. 0,72 ml (Ansatz 1 a + 1 mg Trypsin),
4. 1,16 ml (Ansatz 1 b + 1 mg Trypsin),
5. 2,52 ml (Ansatz 1 c + 1 mg Trypsin),
6. 0,72 ml (Ansatz 1 a + 2 mg Trypsin),
7. 1,16 ml (Ansatz 1 b + 2 mg Trypsin),
8. 2,52 ml (Ansatz 1 c + 2 mg Trypsin),
9. 2,0 ml Leerversuch: 2 ml physiol. NaCl-Lösung + 2mg Trypsin,
10. 1,16 ml (Ansatz 1 b + 0,5 mg Trypsin),
11. 0,80 ml dialysierter Harn vor Alloxan (= Ansatz 1),
12. 0,50 ml Standard = 0,5 KE (0,5 ml Harnkallikrein).

Ansätze: 2 - 8 und 10, 1,0 ml dialysierter Harn + 1 mg Trypsin, bzw. 2 mg, 0,5 mg; 10 Minuten Inkubation.

Anders verhalten sich die Harnkallikreinwerte bei einer Alloxanratte; wie aus der Abbildung 9 zu ersehen, zeigen die mit 1 a bis 1 c gekennzeichneten Harnproben im Vergleich zu der Standard-Harnkallikreinlösung (Ansatz 12), keine blutdrucksenkende Wirkung, im Gegensatz zu dem Ausgangswert, welcher 1,10 KE/ml Harn betrug und somit im Normbereich lag.

Wurde zu den Harnproben, welche zunächst keine Blutdrucksenkung hervorriefen, kristallines Trypsin zugesetzt, so zeigte es sich, daß diese Proben einen normalen Kallikreingehalt enthalten (Ansätze 3 - 5, Abbildung 9).

Waren dagegen die üblichen diabetischen Symptome bei Alloxanratten weniger ausgeprägt und eine Nierenschädigung, wie später gezeigt werden soll, nicht zu

objektivieren, so normalisierte sich der Kallikreingehalt einzelner Harnproben nach anfänglicher Verminderung innerhalb von wenigen Tagen völlig. Wiederum zeigte es sich, daß zahlreiche Alloxan-Ratten trotz manifestem Diabetes keine Herabsetzung ihres Harnkallikreingehaltes aufwiesen. Die Nieren solcher Ratten wurden histologisch intakt vorgefunden.

Es kam somit die Frage auf, ob ein direkter Zusammenhang zwischen der durch das Alloxan verursachten B-Zellschädigung und der Verminderung der Harnkallikreinwerte besteht, oder ob diese Verminderung sekundär durch eine Schädigung der Nieren hervorgerufen wurde. Da durch die vorausgegangenen Untersuchungen bereits bekannt war (1), daß das Alloxan eine Schädigung im Bereich der Hauptstücke der Nierentubuli verursacht, wurden die Nieren solcher Alloxanratten bei denen es zu einer Verminderung des Harnkallikreins kam, eingehend histologisch untersucht. Die morphologischen Veränderungen im genannten Bereich, wie sie bereits von BARGMANN und CREUTZFELDT früher erkannt wurden, fanden sich bestätigt. Im Harnsediment solcher Ratten wurden vereinzelt hyaline Zylinder vorgefunden; die Eiweißprobe ergab Spuren von Eiweiß oder sie fiel positiv aus. Auf die Einzelheiten der histologischen Veränderungen im Bereich der Nieren soll später im Kapitel Histologie eingegangen werden.

Die Vermutung eines Zusammenhanges zwischen diesen histologischen Veränderungen im Bereich der Nieren und der Verminderung des Harnkallikreins war folglich naheliegend. Die früheren, durch WERLE und KORSTEN (14) durchgeführten Untersuchungen über die Harnkallikreinausscheidung bei gesunden und kranken Menschen zeigten bei verschiedenen Nierenkrankheiten, insbesondere bei der Nephrose und Schwangerschaftsnephropathie, im Durchschnitt erheblich verminderte Harnkallikreinwerte; sie betrugen zum Teil nur $1/16$ bis $1/20$ des Normalen. Die obengenannten Autoren (14) nahmen an, daß die Niere ihre unter normalen Bedingungen vorhandene Fähigkeit des Kallikrein auszuscheiden verloren habe; auch an die Möglichkeit, daß das Kallikrein inaktiv im Harn vorliegen könnte, wurde in Erwägung gezogen. An Hand von eingehenden Untersuchungen ließ sich diese Annahme zunächst jedoch nicht bestätigen.

Wegweisend für die weiteren Untersuchungen war die rein theoretische Überlegung, ob die Niere ihre normalerweise vorhandene Fähigkeit der Aktivierung des in seiner inaktiven Form vorliegenden Kallikreins im Blut durch die vorausgegangene Alloxanschädigung des Nierenparenchyms verloren habe. Im Harn solcher alloxangeschädigter Ratten müßte folglich das Kallikrein inaktiv vorliegen. Der Nachweis dieses durch die üblichen Methoden würde freilich ohne vorausgegangener Trypsinaktivierung nicht gelingen. Durch Hinzufügen von kristallinem Trypsin zu Harnproben deren Kallikreingehalt im Vergleich zu den Ausgangswerten vor Alloxan vermindert war, fand sich diese Annahme bestätigt. Es zeigte sich, daß solche Harnproben in Wirklichkeit einen normalen Kallikreingehalt aufweisen.

Die Pseudoverminderung stellte somit nur eine Folge der Nierenschädigung durch die vorausgegangene Alloxaninjektion dar.

Inzwischen konnten WERLE und Mitarbeiter (32) auf Grund von Untersuchungen der Harnkallikreinausscheidung bei nierenkranken Patienten nachweisen, daß die Ausscheidung des inaktiven Kallikreins der Höhe der Eiweißausscheidung im Harn proportional verläuft und daß das Kallikreinogen im Harn durch das Trypsin aktivierbar ist (30, 32).

Die Aktivierung konnte bei vorliegenden Versuchen an Ratten in manchen Fällen bereits mit 500 γ -, oder 1 mg kristallinen Trypsins erreicht werden; in anderen Fällen waren 2 mg Trypsin pro 1 ml dialysierten Harnes zur vollen Aktivierung erforderlich. Die Kontrollversuche (Injektion von physiologischer Kochsalzlösung, welcher kristallines Trypsin zugegeben wurde), zeigten nur eine geringe blutdrucksenkende Wirkung am Testhund. Diese blutdrucksenkende Eigenschaft des Trypsins - die übrigens beim Hund sehr gering ist - war durch die vorangegangenen Versuche anderer Autoren (10) bereits bekannt. Es handelt sich somit nicht um eine Addition zweier blutdrucksenkender Substanzen (des Harnkallikreins und des Trypsins), sondern um die blutdrucksenkende Eigenschaft des nun aktiv vorliegenden Kallikreins im Harn.

Ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Kallikreinausscheidung und dem Anstieg des Blutkallikreins einerseits, sowie dem Ausmaß der B-Zellschädigung andererseits, ging aus den vorliegenden Versuchen nicht hervor. Bei alloxandiabetischen Tieren fand sich trotz Blutzuckererhöhung, Blutkallikreinvermehrung und manifester B-Zellschädigung, nach optimalem Trypsinzusatz, ein im Vergleich zu den Ausgangswerten normaler Harnkallikreingehalt, nur daß das Kallikrein aus seiner inaktiven Vorstufe durch das Trypsin freigelegt werden mußte. Das gleiche gilt für diejenigen Ratten, die nach Alloxan zwar eine histologisch gesicherte B-Zellschädigung und Blutkallikreinogenerhöhung, jedoch keinen Anstieg ihres Blutzuckers zeigten, vorausgesetzt, daß eine Nierenschädigung vorgelegen hat, war das nicht der Fall, so lag das Kallikrein in aktiver Form und in normaler Höhe vor. Ein Anstieg des Kallikreins im Harn konnte also weder bei diabetischen noch bei nichtdiabetischen Alloxanratten, trotz vorübergehender Erhöhung des Blutkallikreins, festgestellt werden.

5. Histologische Veränderungen nach Alloxanschädigung im Bereich des Pankreas- und des Nierenparenchyms.

Wie die Untersuchungen von DUNN (7, 8), BARGMANN und CREUTZFELDT (1), MASKE, WOLFF, STAMPFL und BAUMGARTEN (25), sowie einer unübersehbaren Reihe anderer Autoren zeigten, kommt es nach parenteraler Zufuhr von Alloxan, bei entsprechender Dosierung deren Höhe von der Empfindlichkeit des Tieres gegen Alloxan und von der Applikationsart abhängig ist (FISTER, RABADJUJA und BAIC (9)), zu einer selektiven Schädigung der B-Zellen des Inselapparates, während die A-Zellen davon verschont bleiben. Die Schädigung pflügt bereits wenige Stunden nach Alloxangabe einzutreten und läßt sich zu diesem Zeitpunkt auch histologisch nachweisen (1, 25). Nach Ablauf von 4 - 5 Tagen, beim Bestehen des chronischen Diabetes, setzen sich die Pankreasinseln ausschließlich aus A-Zellen zusammen (1), während normalerweise eine Relation zwischen A- und B-Zellen von 1 : 7 (GOMORI, 16) angegeben wird. Nach Untersuchungen von BARGMANN und CREUTZFELDT (1) beträgt dieses Verhältnis bereits am 3. Tag 1 : 0,35.

Es ist außerdem seit der erstmaligen Anwendung des Alloxans bekannt, daß diese Substanz als echtes Zellgift (BARGMANN und CREUTZFELDT, 1), nicht nur die bereits erwähnte B-Zellschädigung zu setzen vermag, sondern darüberhinaus auch den exkretorischen Drüsenanteil des Pankreas, sowie andere parenchymatöse Organe - hier sei vor allem die bereits beschriebene Nierenschädigung erwähnt - angreift.

In diesem Zusammenhang sind die Untersuchungen von BECKER (2) von besonderem Interesse. Bei Studien über das Entstehen des sogenannten Halophaenoms am Pankreasdrüsengewebe konnte dieser Autor nachweisen, daß die Auswirkung einer einmaligen intraperitonealen Zufuhr von 5 mg Alloxan pro Ratte, einem chronischen Vagusreiz des exokrinen Teiles der Bauchspeicheldrüse gleichkäme. In den von den Inseln fernegelegenen Azini kam es zu einer Extrusion eines eiweißreichen Sekretes vom Proteochyliotyp. BECKER bezeichnet folglich das Alloxan als ein ausgesprochenes Extrusionsmittel des exokrinen Teiles des Pankreas. Diese Eigenschaft sei von der Applikationsart unabhängig; die Extrusion des Sekretes erfolgt sowohl nach subkutaner als auch intraarterieller-, intravenöser-, oder intraperitonealer Verabreichung. Die von BECKER beschriebenen morphologischen Veränderungen am exokrinen Pankreasgewebe konnten durch die vorliegenden Untersuchungsergebnisse bestätigt werden: in den periinsulären Drüsenazini fiel eine grobe Granulation des Protoplasmas auf. Nach BECKER handelt es sich hierbei um Proenzymgranula; das Epithel der Azini befindet sich demnach im Stadium der Stapelung. Als Ausdruck der bereits erfolgten Extrusion des Sekretes enthalten hingegen die von den Inseln fernegelegenen Azini nur in den apikalen Abschnitten der Epithelien wenige Proenzymgranula. Die Extrusion des Sekretes in den periinsulären Azini wird durch das über die Capillaren in die Intrazellulärspalten aus-

getretenes Insulin gehemmt. Nach BECKER liegen somit hier dieselben Verhältnisse wie bei einem Vagusreiz der Drüse vor: Extrusion des exokrinen Parenchyms, unter gleichzeitiger Hemmung der Ausschüttung des Sekretes durch das freigewordene Insulin. Es sei hinzugefügt, daß die genannten morphologischen Veränderungen nicht nur unmittelbar nach der Alloxanverabreichung nachzuweisen waren, sondern auch beim chronischen Diabetes, nach Ablauf von mehreren Wochen post Injektionem von Alloxan, so daß man mit Recht von einem chronischen, vagusähnlichen Reiz des exokrinen Pankreasgewebes sprechen kann.

Die histologischen Veränderungen im Bereich des exokrinen Gewebes waren sowohl an Präparaten mit Haemalaun-Eosin-Färbung als auch bei der Spezialfärbemethode nach GOMORI, bzw. MASKE deutlich erkennbar. Bei der ersteren fiel bereits bei schwacher Vergrößerung eine intensiv eosinophil-gefärbte Zone um die Inseln herum auf. Dieser Befund kommt dadurch zustande, daß die Proenzymgranula im Bereich der periinsulären Azini sich intensiv mit sauren Farbstoffen anfärbt. Die Veränderungen am exokrinen Drüsengewebe waren vom Ausmaß der B-Zellschädigung im Bereich der Inseln unabhängig.

Morphologische Veränderungen am exokrinen Drüsenparenchym des Pankreas waren jedoch nicht auf die Azini allein beschränkt; bereits GOLDNER und GOMORI (16, 17, 18), später auch BARGMANN und CREUTZFELDT (1) erkannten erstmals auch am Gangepithel eine extreme Vakuolisierung des Protoplasmas, welche über das Normale, Physiologische hinausging. GROSSMANN und IVY (20), die den gleichen Befund erheben konnten, sprachen zum ersten Mal den Gedanken aus, daß diese Vakuolisierung auf einer Art sekretorischer Leistung des Gangepithels beruhen könnte. Nachprüfungen ergaben, daß die gleichen Veränderungen, außer durch das Alloxan, durch das Sekretin ebenfalls hervorgerufen werden können (2).

In vorliegenden Versuchen fanden sich die bekannten histologisch-manifesten Schädigungen der B-Zellen, bei gleichbleibender Alloxandosierung, in wechselnder Stärke ausgebildet. Die Serienschnitte zeigten bei Alloxanratten mit Blutzuckerwerten um 400 mg % meist einen völligen Untergang der B-Zellen. In anderen Fällen zeigten die histologischen Schnitte als Ausdruck der Alloxanschädigung nur teilweisen Untergang oder lediglich degenerative Veränderungen der B-Zellen in Form von Kernpyknose, Kernuntergang und Vakuolenbildung des Zellplasmas. Auffallend war die Feststellung, welche übrigens von anderen Autoren bereits früher gemacht wurde (9), daß die B-Zellschädigung nicht bei allen Versuchstieren zu einer Manifestation des Diabetes führt (FISTER, RABADJJA, BAIC); bei einzelnen Tieren kam es zwar initial zu einer Hyperklykämie, nach wenigen Tagen normalisierten sich jedoch die Blutzuckerwerte. Diese Feststellung war für die vorliegenden Versuche von Bedeutung, zumal es sich zeigte, daß die Zellstrukturveränderungen nach Alloxan im Bereich der Inselzellen von den morphologischen Veränderungen im Bereich des exokrinen Drüsenanteiles un-

abhängig waren; die letzteren waren konstant nachzuweisen, während das Ausmaß der B-Zellschädigung - an Hand der Blutzuckerwerte zu urteilen - doch von Fall zu Fall sehr unterschiedlich gewesen sein mußte.

Die A-Zellen zeigten keinerlei Anzeichen einer Schädigung durch das Alloxan - soweit dies vom morphologischen Standpunkt aus gesehen - beurteilt werden kann. Diese waren somit als die einzige Zellart im Bereich des Pankreas von der Schädigung verschont geblieben.

Die morphologischen Veränderungen im Bereich des Nierenparenchyms nach Alloxan sind von BARGMANN und CREUTZFELDT (1) eingehend beschrieben worden. Die genannten Autoren gaben einen Anteil von 2/3 der Versuchstiere an, bei denen eine Nierenschädigung auftrat. Die Untersuchungen erstreckten sich allerdings nur auf Hunde. Auch bei den vorliegenden Versuchen an Ratten lassen sich diese Angaben und die beschriebenen Zellstrukturveränderungen bestätigen. Durch das Alloxan angegriffen werden vor allem Epithelien der Hauptstücke der Tubuli contorti. Es kommt ähnlich wie beim Untergang der B-Zellen, zur Zelldegeneration in Form von trüber Schwellung, dann zur Kernpyknose und schließlich zum Untergang der Epithelien. Die Zellreste werden in die Lumine der Tubuli ausgestoßen. Nach etwa 8 Tagen tritt Verkalkung der geschädigten Tubulusabschnitte ein unter Bildung von Kalkzylindern, vor allem im Bereich der Hauptstücke. Im Bereich der Glomeruli konnten histologisch keinerlei pathologische Veränderungen festgestellt werden; die Capillaren, sowohl im Bereich der Glomeruli als auch im Bereich des Drüsenparenchyms des Pankreas, wurden übereinstimmend mit den früheren von BARGMANN und CREUTZFELDT gemachten Feststellungen, intakt vorgefunden. Es handelt sich, nach Meinung der genannten Autoren, bei der Alloxanschädigung des Nierenparenchyms vorwiegend um eine nekrotisierende Nephrose, ohne nephritischen Einschlag.

Entsprechend den morphologischen Veränderungen im Bereich der Hauptstücke der Tubuli, fand sich im Harnsediment mikroskopisch Zelldetritus und Zylindrurie, jedoch keine Erythrocyten. Eine Albuminurie war, wie bereits erwähnt, stets nachzuweisen.

III. DISKUSSION DER EXPERIMENTELLEN ERGEBNISSE

Die Untersuchungen waren davon ausgegangen, an Hand einer experimentell erzeugten B-Zellschädigung und deren Einfluß auf den Kallikreingehalt, festzustellen, ob die B-Zellen der Pankreasinseln als Kallikreinbildner in Frage kommen.

Es wäre zu erwarten gewesen, daß eine selektive Schädigung der B-Zellen und damit der fraglichen Ursprungsstätte des Kallikreins, sofort einen Abfall des Stoffes im Blut und bei Voraussetzung der Identität des Blut- und Harnkallikreins auch einen Abfall im Harn zur Folge haben müßte, da die Ausschaltung der B-Zellen einer Pankreasexstirpation praktisch gleichkäme. Die vorliegenden Ergebnisse haben aber gezeigt, daß eine Schädigung bzw. Wegfall der B-Zellen das Blutkallikreinogen nicht zu beeinflussen vermag, zumindest nicht im negativen Sinne, in Form einer Verminderung. Im Gegenteil kam es bei weitaus dem größten Teil der Versuchstiere nach Alloxanschädigung zu einer vorübergehenden Vermehrung des Kallikreingehaltes im Blut, die über mehrere Tage, in manchen Fällen über mehrere Wochen andauerte, welche zunächst nicht zu erklären war.

Wäre der Anstieg des Blutkallikreinogens nur kurzdauernd gewesen, so hätte die Frage geklärt werden müssen, ob nicht gerade diese abrupte Zerstörung der B-Zellen - der fraglichen Ursprungsstätte - zum Freiwerden von größeren Mengen Kallikreins und deren Übertritt in die Blutbahn geführt hat. Der Zelluntergang vollzieht sich jedoch, wie bereits gezeigt werden konnte, innerhalb von wenigen Stunden bis maximal 3 Tagen; der Kallikreinanstieg hielt hingegen bis zu 14 Tagen nach der Verabreichung des Alloxans an, so daß eine solche Möglichkeit wohl nicht in Betracht kommt.

Von Bedeutung war ferner die Feststellung, daß die Blutzuckersteigerung als solche für den Anstieg des Kallikreins im Blut nicht verantwortlich ist. Sowohl bei diabetischen als auch bei nichtdiabetischen Alloxanratten - in beiden Fällen lag eine histologisch manifeste B-Zellschädigung vor - war nach Alloxan eine deutliche Zunahme des Kallikreins im Blut zu beobachten. Daraus konnte geschlossen werden, daß nicht die B-Zellschädigung für die quantitative Änderung des Kallikreins im Blut verantwortlich gemacht werden kann, sondern daß noch ein anderer Faktor als Ursache in Frage kommen muß, zumal das Blutkallikreinogen, wie bereits erwähnt, nach einer begrenzten Zeit wieder seine normale Höhe erreichte, während die B-Zellschädigung bestehen blieb.

Wie das Blutkallikreinogen, normalisierten sich etwa innerhalb desselben Zeitraumes auch die exkretorischen Pankreasenzyme, Diastase und die als pankreas-

spezifisch geltende, atoxylresistente Lipase im Blut. Beide Fermente waren auffallenderweise - wie das Blutkallikreinogen - nach Alloxan kurzfristig pathologisch erhöht. Der Befund sprach somit eindeutig für eine Mitbeteiligung auch des exkretorischen Teiles der Bauchspeicheldrüse.

Im Pankreasdrüsenhomogenat fiel bei Alloxanratten ebenfalls eine Vermehrung des Kallikreins auf. Außerdem zeigte es sich bei der Injektion von Homogenaten am Testhund, daß diese keines Trypsinzusatzes zur Aktivierung des Kallikreins bedurften, somit spontan-aktiv waren.

Bei der Annahme, daß die B-Zellen als Kallikreinbildner in Frage kommen, wären im Pankreasdrüsenhomogenat nach Ablauf von einigen Tagen oder Wochen, wenn der Untergang der B-Zellen mit Sicherheit vollzogen war, höchstens noch Spuren von Kallikrein, die aus den Blutgefäßen der Drüse stammen könnten, zu erwarten gewesen. Das Kallikrein lag aber auch im Homogenat, ähnlich wie die exkretorischen Pankreasfermente, in normaler oder erhöhter Konzentration vor. Da auf Grund der Untersuchungen von GROSSMANN, GREENGARD und IVY (21) der im Pankreas vorgefundene Fermentgehalt, der Fermentproduktion entspricht, ist anzunehmen, daß die Kallikreinproduktion durch die Zerstörung der B-Zellen nicht beeinflußt worden ist. Daraus geht hervor, daß das Alloxan - von der selektiven B-Zellschädigung abgesehen - für das Pankreas einen weitgehend unspezifischen Reiz darstellte, welcher die Drüse zu einer vermehrten sekretorischen Leistung veranlaßte, wodurch auch die Kallikreinbildung betroffen wurde.

Das Verhalten des Kallikreins im Blut und im Pankreashomogenat nach Alloxanschädigung würde demzufolge dafür sprechen, daß aller Wahrscheinlichkeit nach die Bildung im exkretorischen Teil der Drüse stattfindet. Diese Annahme konnte inzwischen durch Versuche von FORELL und Mitarbeitern (14) bestätigt werden; nach Erzeugung einer Pankreasatrophie durch die Unterbindung des Pankreasausführungsganges, bei welcher bekanntlich nur der exkretorische Teil des Pankreas betroffen wird, während die Pankreasinseln intakt bleiben, konnte gezeigt werden, daß es sowohl in der Drüse selbst als auch im Harn zu einer deutlichen Verminderung des Kallikreins kommt.

Der vorübergehende Anstieg des Blutkallikreinogens nach Alloxanschädigung kann zum Teil durch den obenerwähnten chronischen Reiz des exkretorischen Drüsenanteiles des Pankreas erklärt werden, Ungeklärt blieb indessen die Frage, warum es - entsprechend dem Blutkallikreinogen - nicht zu einem vermehrten Auftreten des Kallikreins im Harn kam. Möglicherweise verhindert die bereits besprochene Nierenschädigung nicht nur die Aktivierung des Kallikreinogens, sondern darüberhinaus auch die Ausscheidung des im Blut vermehrt aufgetretenen Kallikreinogens nach Alloxan. Ob damit gleichzeitig zum Teil die Ursache der Kallikreinogenvermehrung im Blut zu erklären wäre, ist fraglich, zumal diese

zeitlich begrenzt war, während die Nierenschädigung nach vorliegenden Befunden doch irreversibel sein dürfte.

Die Feststellung, daß die besprochene Nierenschädigung im Bereich der Hauptstücke der Tubuli die Aktivierung des Kallikreins zu verhindern vermag, erbrachte den sicheren Beweis dafür, daß in diesem Bereich bei intakter Niere die Aktivierung des normalerweise inaktiv im Blut vorliegenden Kallikreins stattfindet, da ja, wie bereits erwähnt, das Kallikrein in seiner aktiven Form im Harn zur Ausscheidung gelangt. Es war demnach möglich, ähnlich wie bei der B-Zellschädigung, mit Hilfe eines Pharmakon selektiv eine weitere Zellart mit ihrer bis dahin unbekannten spezifischen Funktion auszuschalten und die Folgen dieses Wegfalls im biologischen Versuch nachzuweisen.

Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse kann somit mit Sicherheit angenommen werden, daß die B-Zellen der Pankreasinseln als Kallikreinbildner nicht in Frage kommen. Inwieweit die von BARGMANN und CREUTZFELDT (1), sowie anderen Autoren (GOLDNER und GOMORI, 16) beschriebene, reaktive Vermehrung und Vergrößerung der A-Zellen (DUNN, 8), nach Alloxan, bei der besprochenen, vorübergehenden Vermehrung des Kallikreins im Blut und im Pankreas eine Rolle spielt, müßten weitere Untersuchungen zeigen; wie auch die Rolle der A-Zellen und deren Einfluß auf die Kallikreinbildung noch eine Lücke im Schrifttum darstellt. Letzteres mag daran liegen, daß bisher keine Substanz gefunden wurde, welche ähnlich wie das Alloxan für die B-Zellen einwandfrei eine isolierte Schädigung der A-Zellen herbeiführt.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

An Ratten wurde nach einer experimentellen B-Zellschädigung der Langerhans'schen Inseln, das Verhalten der vorwiegend aus dem Pankreas stammenden, kreislaufaktiven Substanz Kallikrein untersucht. Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Die Alloxanschädigung führt zu einem, von der Kohlenhydratstoffwechsellage des Tieres unabhängigen Anstieg des Kallikreinogens im Blut und im Pankreas.
2. Für den Anstieg des Kallikreins sind nicht der Grad der B-Zellschädigung maßgebend, sondern die gleichzeitig auftretenden Veränderungen am exokrinen Drüsengewebe des Pankreas, die als Ausdruck eines unspezifischen Sekretionsreizes aufgefaßt werden.

3. Die gleichzeitig auftretende Nierenschädigung führt zur Verhinderung der Aktivierung des Kallikreins im Harn, wodurch das Harnkallikrein in inaktiver Form zur Ausscheidung gelangt.
Das in inaktiver Form vorliegende Harnkallikreinogen ist mit Trypsin aktivierbar.
4. Da vorwiegend die proximalen Nierentubuli als Ort der Alloxanschädigung erkannt wurden, wird angenommen, daß dort normalerweise die Aktivierung des Kallikreinogens zum Kallikrein stattfindet.
5. Die B-Zellen des Inselapparates konnten als Bildungsort des Kallikreins ausgeschlossen werden.
6. Das Verhalten des Kallikreins und der exkretorisch gebildeten Pankreasenzyme im Blut und in der Bauchspeicheldrüse nach Alloxan, spricht für die Annahme, daß das Kallikrein im exkretorischen Teil des Pankreas gebildet wird.

V. LITERATURVERZEICHNIS

1. Bargmann, W. und Creutzfeldt, W.:
Zur Morphologie des Alloxandiabetes.
Klin. Wschr. 27, 268 (1949).
2. Becker, V.: Sekretionsstudien am Pankreas.
Stuttgart: Thieme 1957
3. Berger, W. J., J. Hartmann und Leubner, H.:
Wien. Arch. inn. Med. 28, 211 (1936)
4. v. Bergmann, G.: Z. exp. Path. Ther. 3, 401 (1909).
5. Boshamer, K.: Arch. Klin. Chir. 171, 574 (1932).
6. Dreiling, D. A. und F. Hollander:
Gastroenterology 15, 620 (1950).
7. Dunn, J. S., Kirckpatrick, J., Mc. Letchie and S. V. Telfer:
J. Parhol. a. Bact. 55, 245 (1943).
8. Dunn, J. S., M. L. Sheehan and Mc. Letchie:
Lancet 1943, 484.
9. Fister, V., Rabadjija, L. und Baic, D.:
Pflügers Arch. ges. Physiol. d. Menschen
und Tiere. 264, 460 (1957).
10. Forell, M. M.: Schweiz. med. Wschr. 26, 828 (1957).
11. Forell, M. M. und W. Dobovicnik:
Klin. Wschr. 37, 1018 (1959).
12. Forell, M. M., W., Dobovicnik und L. Göldel:
Zeitschr. ges. exp. Med. 132, 399 (1960).
13. Frey, E. K. und H. Kraut:
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp.
Pathol. u. Pharmak. 133, 1 (1928).
14. Frey, E. K., H. Kraut und E. Werle:
Kallikrein. Stuttgart: Enke 1950.

15. Frey, E. K., H. Kraut und E. Werle:
Klin. Wschr. 1932, S. 846.
16. Goldner, M. G. and G. Gomori:
Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. (Am.)
54, 287 (1943); 55, 73 (1944);
58, 31, 232 (1945); 65, 18 (1947);
Endocrinology (Am.) 33, (1943); 35, (1944).
17. Gomori, G.: Amer. J. Path. 15, 497 (1939).
18. Gomori, G.: Amer. J. Clin. Pathol. 20, 665 (1950).
19. Grossman, M. I.: Arch. Intern. Med. 96, 298 (1955).
20. Grossman, M. I. and A. C. Ivy:
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 63, 62 (1946).
21. Grossman, M. I., H. Greengard and A. C. Ivy:
Amer. J. Physiol. 138, 676 (1943).
22. Hallmann, L.: Klinische Chemie und Mikroskopie.
Stuttgart: Thieme 1955.
23. Henning, N. und Heinkel, K.:
Klin. Wschr. 30, 564 (1952); 31, 815 (1953).
24. Maske, H.: Klin. Wschr. 33, 1058 (1955).
25. Maske, H., Wolff, H., Stampfl, B. und F. Baumgarten:
Arch. exp. Path. 216, 457 (1952).
26. Petrides, P.: Klin. Wschr. 1947, S. 742.
27. Scoz, G.: Klin. Wschr. 19, 1014 (1940).
28. Somogyi, M.: J. Biol. Chem. 125, 399 (1958).
29. Werle, E., M. M. Forell und Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path.
L. Meier: Pharmak. 225, 369 (1955).
30. Werle, E.: Polypeptides which Affect Smooth Muscles and Blood
vesels. Oxford: Pergamon Press 1960.
31. Werle, E. u. K. Urhahn:
Z. Biochem. 304, 387 (1940).
32. Werle, E. u. R. Vogel:
Leistungen und Ergebnisse der neuzeitlichen Chirurgie.
Stuttgart: Thieme 1958, S. 59.

LEBENS LAUF

Als Sohn des Michael Dobovicnik und seiner Ehefrau Antonie Dobovicnik bin ich am 10. April 1922 in Smartno-Slovenjgradec/Jugoslavien geboren. Nach Besuch der Volksschule in Unterdrauburg und des Staatlichen Gymnasiums zu Leibach, folgte im Jahre 1940 die Ablegung der Reifeprüfung.

Nach einem einjährigen Aufenthalt auf der Militärakademie in Belgrad, geriet ich 1941, während des Balkanfeldzuges in deutsche Kriegsgefangenschaft und wurde 1942 aus dieser entlassen. 1943 folgte ich dem Einberufungsbefehl zur deutschen Wehrmacht. Nach einer Militärdienstzeit von einem Jahr und anschließender Kriegsgefangenschaft in England bis 1946, verbrachte ich vier Jahre als Angestellter einer Britischen Dienststelle in Norddeutschland. Von 1950 bis 1955 studierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität München Medizin und beendete hier am 21. Dezember 1955 das Staatsexamen.

Von Januar 1956 bis März 1957 war ich als Pflichtassistent in der I. Medizinischen Universitätsklinik München tätig; seit der Zeit stehe ich als Volontärassistent im Dienste der II. Medizinischen Universitätsklinik München.

Neben meiner klinischen Tätigkeit habe ich mich seit Erlangung der Approbation im Jahre 1955, als wissenschaftlicher Mitarbeiter beim Herrn Dozenten Dr. M. M. FORELL, in der II. Medizinischen Klinik betätigt.



